

离子色谱法检测氯化琥珀胆碱注射液中的氯化胆碱的含量*

郑洪国^{1,3}, 宁张磊², 梁立娜^{1,3}, 蔡亚岐^{1**}

(1. 中国科学院生态环境研究中心 环境化学与生态毒理学国家重点实验室, 北京 100085;

2 北京科技大学化学系, 北京 100083; 3. 戴安中国有限公司应用技术研究中心, 北京 100085)

摘要 目的: 采用抑制型离子色谱建立一种全新的方法检测氯化琥珀胆碱注射液中氯化胆碱的含量。方法: 采用强亲水性的 InPac CS17 阳离子交换分离柱分离, 甲烷磺酸淋洗液梯度洗脱, 抑制电导检测氯化胆碱的含量。结果: 氯化胆碱的线性范围为 0.1 ~ 100 mg · L⁻¹; 线性相关系数为 0.9997; 检出限 (S/N = 3) 为 0.02 mg · L⁻¹; 样品加标回收率介于 80% ~ 110% 之间。结论: 方法操作简单, 选择性好, 灵敏度高, 结果可靠, 完全满足氯化琥珀胆碱注射液的质量监测需要。

关键词: 离子色谱; 氯化胆碱; 氯化琥珀胆碱; 氯化琥珀胆碱注射液

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254 - 1793 (2009) 12 - 2147 - 03

Detem ination of choline chloride in succinylcholine chloride injection by ion chromatography*

ZHENG Hong - guo^{1,3}, N ING zhang - lei², L ANG Li - na^{1,3}, CA I Ya - qi^{1**}

(1. State Key Laboratory of Environmental Chemistry and Ecotoxicology, Research Center for Eco - Environment Science,

Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China; 2. Beijing University of Technology and Science, Beijing 100083, China;

3. Dionex Corporation China, Application and Research Center, Beijing 100085, China)

Abstract Objective: To develop a new method for detem ination of choline chloride in succinylcholine chloride injection by ion - chromatography separation and suppressed conductivity detection **Methods:** The separation of choline chloride, succinylcholine chloride and common cations were achieved on InPac CS17 column which was a hydrophilic cation exchange column using Methanesulfonic acid (MSA) as gradient eluent, and the detection was performed by a conductivity detection mode **Results:** The linear correlation coefficient of choline chloride was 0.9997 in the range of 0.1 - 100 mg · L⁻¹, and the detection limit of it (S/N = 3) was 0.02 mg · L⁻¹, the spiked recoveries were 80% - 110%. **Conclusion:** The succinylcholine chloride injection samples are prepared with dilution only before injection. The method is simple and sensitive. It is used for measuring the choline chloride in succinylcholine chloride injection as impurity successfully.

Key words: ion chromatography; choline chloride; succinylcholine chloride; succinylcholine chloride injection

氯化琥珀胆碱注射液是医学上常用的一种骨骼肌松弛剂,由琥珀酰氯和氯化胆碱在一定条件下反应制取,其中必然残留氯化胆碱。美国药典中要求氯化琥珀胆碱中氯化胆碱的含量不能超过 0.3%^[1]。经研究发现^[2,3],长期保存的氯化琥珀胆碱注射液会发生降解,产生氯化胆碱,失去药效。因此,建立合适的方法来准确检测其中的氯化胆碱含量,不仅可以监测出氯化琥珀胆碱产品质量的优劣,从氯化胆碱的含量也能反应出氯化琥珀胆碱的降解

速率,进而探寻出最佳保存条件。

目前,国内外主要采用色谱分离的方法检测氯化琥珀胆碱注射液中的氯化胆碱含量。中国药典中采用薄层色谱法,以氯化胆碱为对照品比较层析斑点颜色深浅,以控制氯化琥珀胆碱中的氯化胆碱含量^[4]。方法的灵敏度不够高,且实验人员之间存在着较大的操作误差。由于氯化胆碱和氯化琥珀胆碱在酸性条件下以阳离子形式存在, Suhe Chen 等采用正己烷磺酸、乙腈和水为淋洗液, 5 μm L1 填料的

* 国家 863 重大课题 (2007AA06A407); 国家自然科学基金项目 (20621703); 国家自然科学基金项目 (20877079)

** 通讯作者 Tel: (010) 62849239; Fax: (010) 62849182; E - mail: caiyaqi@reese.ac.cn

色谱柱梯度分离,抑制电导检测氯化琥珀胆碱注射液中的氯化胆碱含量^[5]。该方法于1996年被收录进美国药典 USP29^[11]。虽然氯化琥珀胆碱在酸性条件下能以二价阳离子形式存在,但由于其碳链较长,结构较对称,与阳离子交换色谱柱固定相之间作用较强,很难将其洗脱。因此,至今未见离子色谱在该药物检测方面的报道。

本文选用新型强亲水性阳离子交换分离柱 InPac CS17为分离柱,大大减弱了氯化琥珀胆碱与固定相之间的作用,不需要加入有机溶剂作为改进剂,甲烷磺酸梯度淋洗,约30 min即可将其洗脱,不影响氯化胆碱的分离检测。氯化琥珀胆碱注射液样品只需简单稀释后即可直接进样分析。

1 仪器与试剂

ICS-2000离子色谱仪(带淋洗液自动发生装置)(Dionex,美国), InPac CG17保护柱(50 * 4 mm), InPac CS17分析柱(250 * 4 mm), CSRS 300(4 mm)阳离子抑制器,Chromleon 6.8色谱工作站。0.22 μm 尼龙膜(Agela Technologies Inc)。1000 mg · L⁻¹氯化胆碱标准储备液由99%氯化胆碱(ACROS ORGANICS)配制。氯化琥珀胆碱注射液样品由某制药公司提供。所有溶液均用电阻率为18.2 MΩ · cm的去离子水(Millipore纯水机提供)配制。

2 实验方法

2.1 色谱条件 色谱柱: InPac CS17分析柱及其保护柱。淋洗液: 0 ~ 12 min, 5 mmol · L⁻¹甲烷磺酸(MSA); 12 ~ 35 min, 5 ~ 50 mmol · L⁻¹; 35 ~ 35.1 min, 50 ~ 5 mmol · L⁻¹。流速为1.0 mL · min⁻¹。定量环为25 μL。柱温30℃。CSRS 300(4 mm)自循环电抑制模式。

2.3 供试样品前处理 将氯化琥珀胆碱注射液样品准确稀释50倍,即可进样分析。

3 结果与讨论

3.1 色谱条件的选择 由于氯化琥珀胆碱碳链较长且结构较对称,与色谱柱固定相之间的作用较强。为减小它们之间的作用,使氯化琥珀胆碱尽快洗脱,必须选用亲水性较强的色谱柱进行分离分析^[6]。常见阳离子交换分离柱 InPac CS12A和 InPac CS16均属于中等疏水的色谱柱。经实验发现,CS12A上即使采用高浓度的淋洗液(>60 mmol · L⁻¹ MSA)进行淋洗,至少需要几个小时才能将氯化琥珀胆碱洗脱下来。加入有机改进剂虽然可以将其保留时间大大提前,但氯化胆碱与常见阳离子的分

离会随着有机溶剂的浓度增加而变差,甚至出现共淋洗现象。CS16属于阳离子交换分离柱中的大容量柱,各离子在其上的保留更强,要想将氯化琥珀胆碱洗脱下来更加困难。InPac CS17色谱柱具有较强的亲水性,经过实验发现,无需加入有机改进剂,30 mmol · L⁻¹ MSA等度淋洗,约20 min即可将氯化琥珀胆碱洗脱。

通过调整淋洗液浓度优化分离度,综合考虑分离度和样品分析时间,采用一步梯度淋洗,即可将氯化胆碱与常见阳离子完全分离,同时也能在较短的时间内将样品基体——氯化琥珀胆碱洗脱出来。实际样品分离谱图参见图1。

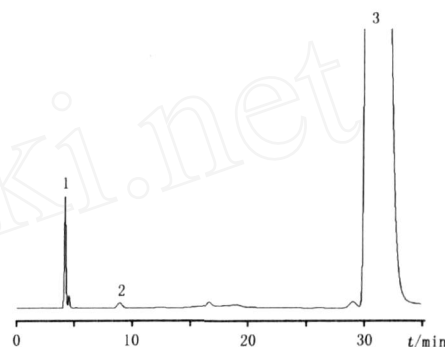


图1 氯化琥珀胆碱注射液样品分离谱图

Fig 1 Chromatogram of choline chloride in succinylcholine chloride injection sample

1. Na⁺ 2. 氯化胆碱(choline chloride) 3. 氯化琥珀胆碱(succinylcholine chloride)

3.2 专属性 在本实验条件下,将处理好的样品溶液直接进样分析得到样品分离谱图(图1)。从图中可见,氯化胆碱峰型较好,基线较为平稳,样品基体对氯化胆碱的检出完全没有干扰。氯化胆碱与其余离子的分离度均能达到2.0以上,理论塔板数以氯化胆碱计不低于3000。

3.3 线性及最低检出限 在选定色谱条件下配制适宜浓度范围的离子标准曲线,氯化胆碱的线性范围在0.1 ~ 100 mg · L⁻¹之间,以氯化胆碱的峰面积对浓度(mg · L⁻¹)作图,得线性方程:

$$Y = 0.0343X - 0.0026 \quad r = 0.9997$$

在本实验条件下,根据3倍基线噪音计算出方法对氯化胆碱的检出限为0.02 mg · L⁻¹。

3.4 重复性和精密度试验 取不同批次生产的氯化琥珀胆碱注射液样品,平行处理5份,在选定的色谱条件下进行分离分析,氯化胆碱的峰面积、保留时间、峰高的RSD依次为1.2%, 0.15%, 1.4%。选择一个样品连续7次进样,氯化胆碱的峰面积、保留

时间和峰高的 RSD 依次为 0.51%, 0.11%, 0.94%。

3.5 稳定性试验 取同一个样品,在相同的色谱条件下分别于 0, 8, 16, 24 h 进样 2 次,记录氯化胆碱的峰面积、保留时间和峰高, RSD 依次为 1.2%, 0.3%, 2.6%。结果表明氯化琥珀胆碱稀释液在 24 h 之内稳定。

3.6 回收率试验 为考察方法的可靠性,随机对 10 余份样品进行加标检测,氯化胆碱加标回收率在 80% ~ 110% 之间。部分样品加标回收结果见表 1。

表 1 部分样品加标回收率 (n = 3)

Tab 1 Recovery of the Choline chloride in the succinylcholine chloride injection samples

样品 (sample)	检测结果 (found) /mg · L ⁻¹	加标量 (added) /mg · L ⁻¹	加标后 (total found) /mg · L ⁻¹	回收率 (recovery) /%
1#	0.53	0.50	1.01	96
2#	0.32	0.50	0.79	94
3#	0.58	0.50	1.02	88
4#	0.62	0.50	1.09	94

3.7 样品检测 将氯化琥珀胆碱注射液样品按照“2.3 项下方法制备成供试样品溶液。每个样品进样分析 2 次,以标准曲线法对氯化胆碱的含量进行测定。部分样品检测结果见表 2。

表 2 部分样品检测结果 (n = 3)

Tab 2 Determination results of the choline chloride in the succinylcholine chloride injection samples

样品名称 (sample)	含量 (content) /mg · L ⁻¹	RSD /%
1	26.50	0.68
2	16.00	1.4
3	29.00	1.2
4	31.00	1.9

4 结论

采用本方法检测氯化琥珀胆碱注射液中氯化胆碱的含量,操作简单,结果可靠,完全能满足检测需要。

参考文献

- 1 The United States Pharmacopeial Convention USP Monographs: Succinylcholine Chloride. USP29 - NF24
- 2 Schmutz CW, Muhlebach SF. Stability of succinylcholine chloride injection. *Am J Hosp Pharm.* 1991, 48 (3): 501
- 3 Frederic Adnet, Laurence Le Moyec *et al* Stability of succinylcholine solutions stored at room temperature studied by nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Emerg Med J.* 2007, 24 (3): 168
- 4 ChP (中国药典). 2005. Vol (二部): 764
- 5 Chen SH, Vaishali Soneji Determination of choline in pharmaceutical formulations by reversed - phase high - performance liquid chromatography and postcolumn suppression conductivity detection. *J Chromatogr A.* 1996, 739: 351
- 6 MOU Shi - fen (牟世芬), LU Ke - na (刘克纳), DING Xiao - jing (丁晓静). *Methods and Applications of Ion Chromatography (离子色谱方法及应用)*. 2nd Ed (第二版), Beijing (北京): Chemical Industry Press (化学工业出版社), 2005. 203

(本文于 2009 年 6 月 30 日修改回)